

게 껍질분말 첨가식이 고지혈증 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향

이경혜[†] · 윤상연 · 김혜경*

창원대학교 식품영양학과

*한서대학교 식품생물공학과

Effect of Crab Shell Powder on Lipid Metabolism in Diet-Induced Hyperlipidemic Rats

Kyung-Hea Lee[†], Sang-Yeon Yoon and Hye-Kyung Kim*

Dept of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 641-773, Korea

*Dept. of Food and Biotechnology, Hanseo University, Chungnam 356-820, Korea

Abstract

This study was performed to investigate the effect of dietary crab shell powder on lipid metabolism in diet induced hyperlipidemic rats. Sixteen male Sprague-Dawley rats were divided into two groups and fed 20% (w/w) crab shell powder supplemented diet for 4 weeks. Energy intake and weight gain were lower in experimental group than in control group. Concentrations of plasma triglyceride, total cholesterol, LDL-cholesterol, and atherogenic index (AI) were decreased and concentration of HDL-cholesterol was increased by crab shell powder supplementation. Concentrations of liver total cholesterol and triglyceride were significantly lower in experimental group. The crab shell decreased triglyceride and cholesterol concentration in plasma and liver, and increased bile acid excretion in feces. Therefore, the crab shell powder is assumed to exhibit function of chitin or chitosan that effects on lipid metabolism and cholesterol reabsorption.

Key words: crab shell powder, lipid profile, chitin, chitosan

서 론

키틴의 원료인 갑각류와 연체 동물의 폐기물 발생량은 전 세계적으로 약 1.46×10^6 메트릭 톤에 이르며(1), 우리나라에서는 게의 폐기물이 매년 5.4×10^4 톤 정도(2) 생산되고 있고, 이들 성분은 갑각류 종류와 계절에 따라 다르지만 일반적으로 키틴 20~30%, 단백질 30~40%, 탄수화물 30~50%으로 구성되어 있다(3-5). 갑각류 껍질의 성분 중 키틴과 키토산 및 그의 유도체에 관한 연구는 활발하게 수행되고 있는데(6-9), 그의 응용 범위도 매우 넓은 것으로 보고되고 있다(3).

우리나라 국민영양조사의 지방 섭취량에 대한 보고에 따르면, 1980년에는 21.8 g으로 총열량의 9.81%의 지방을 섭취한 것에 반해 1995년에는 38.5 g으로 총열량의 19.1%를 차지해 섭취량이 1.8배나 증가하였고, 이 중 동물성 지방이 18.0 g으로 총지방 섭취량의 46.8%를 차지하였다(10,11). 이와 같은 식이 섭취 양상의 변화로 인한 포화지방과 콜레스테롤 섭취의 증가 및 생활양식의 변화가 맞물려 질병 발생의 양상이 점차로 변화되고 있으며(11,12),

이로 인하여 심혈관계질환의 위험성이 계속적으로 증가하고 있는 실정이다(13) 따라서 포화지방과 콜레스테롤의 섭취량을 줄이고 심혈관계 질환의 위험성을 감소시키기 위하여 많은 노력이 이루어지고 있으며, 그 중 키틴, 키토산의 혈중 지질개선 효과가 밝혀지고 있다(14-21). 그러나 키틴, 키토산의 분리가 어려워 이들의 수율을 높이기 위한 여러 가지 방법들이 시도되고 있으며(3,4,22,23). 그 중 강산, 강염기를 10~15배 첨가하여 분리해 내는 방법이 가장 일반적이며 경제적인데, 이 과정에서 발생하는 폐수의 BOD(Biochemical Oxygen Demand)가 높아 환경 문제를 해결하기 위해 시작한 갑각류 연구가 오히려 그 취지에 반대되는 하천이나 해양의 오염원으로 문제시 되는 모순을 낳고 있다(22,23).

따라서 다른 갑각류에 비해 폐기물 양이 많고 키틴 함량이 높은 게 껍질이 충분한 생리적 기능을 가지고 있다면 가공하지 않고 사용하는 것이 여러 방면에서 유익할 것으로 기대된다. 즉 키틴 및 키토산의 생리적 기능을 게 껍질 분말로 대체시킬 수 있는가를 알아보기 위한 초기 연구로 고지혈증이 유도된 쥐에게 게 껍질분말 첨가식이

[†]To whom all correspondence should be addressed

를 섭취시켜 혈중 지질개선에 미치는 효과를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험 동물 사육과 식이

체중이 약 100 g 정도 되는 Sprague-Dawley (male) 16 마리를 표준사료로 적응시킨 후 체중에 따른 난피법으로 2 group으로 나누어 4주간 사육하였다. 식이 섭취량은 매일 일정한 시간에 조사하였고, 식이와 물은 제한없이 제공하였으며 체중은 1주일에 1회 측정하였다.

계 찌질은 충남 태안군 태안 수산 종묘 배양장에서 수집하여 냉동 상태로 우송되었고 이를 동결건조(Labconco, # 77530-13 I, 온도: $-48^{\circ}\text{C} \sim -50^{\circ}\text{C}$, 압력: $93 \times 10^{-3} \sim 100 \times 10^{-3}$, 24h)한 후 분쇄하여 식이에 첨가하였다. 식이 조성은 Table 1과 같으며 고지혈증 및 지방간을 조속히 형성시키기 위하여 Tinker 등(24)과 Peries 등(25)의 보고에 준하여 0.3%의 Na-taurocholate와 1%의 콜레스테롤을 식이에 첨가하였다. 식이 조성내의 열량은 한국인의 영양 권장량을 참조하여 당질: 단백질: 지방=60~65:15~20:20의 비율과 유사하도록 조정하였다.

변 수집 및 혈액과 장기의 채취

번은 희생하기 전 1주일 동안의 번을 수집하여 동결 건조(Labconco, # 77530-13 I, 온도: $-48^{\circ}\text{C} \sim -50^{\circ}\text{C}$, 압력: $93 \times 10^{-3} \sim 100 \times 10^{-3}$, 24h) 후 분쇄하여 냉동(-20°C) 저장하였다. 사육 마지막 날 12시간 절식시킨 후 ethyl ether로 마취시켜 대동맥에서 혈액을 채취하였고 3,000

rpm에서 10분간 헤파린 처리된 원심관을 이용하여 혈장을 분리하였으며 분석시까지 -70°C 로 냉동저장하였다. 체질 직후 각 장기를 적출하고 무게를 측정 후, 분석시까지 냉동저장하였다.

생화학적 분석

혈장의 중성지방은 효소 kit(Sigma Chemical Co., St. Louis, USA)를 사용하여 비색법으로 측정하였으며, 총콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤은 Allain 등(26)의 방법에 따라 효소 kit(Sigma Chemical Co., St. Louis, USA)를 사용하여 역시 비색법으로 측정하였다. LDL-콜레스테롤은 Friedewald 등(27)의 방법으로 계산하였다.

간의 지질 분석은 Sale 등(28)과 Folch 등(29)의 방법으로 지질을 추출한 후, 혈장 중성지방 및 콜레스테롤 측정방법과 동일한 효소법으로 측정하였다.

번의 담즙산 추출은 Fausa와 Skalhegg(30) 및 Hagerman과 Schneider(31)의 방법을 응용하여 실시하였으며, 건조하여 분말화된 번 0.5 g을 취하여 0.1 N HCl이 포함된 80% ethanol을 넣어 vortex mixer로 혼합한 후 2,500 rpm에서 원심분리하였다. 여기서 얻어진 상층액에 petroleum ether를 첨가하고 잘 혼합한 후 하층액을 분리하였다. 이 하층액에 bile acid reagent A와 B(Sigma Chemical Co., St. Louis, USA)를 사용하여 비색법으로 정량하였다.

통계분석

모든 측정치는 SPSS 통계 Package를 이용하여 실험 결과로부터 각 군별 평균과 표준편차를 산정하였다. 두 군에서 얻어진 모든 값의 유의적 차이는 *t*-test에 의해 검정하였으며 $p < 0.05$ 수준에서 유의적인 차이를 인정하였다.

결과 및 고찰

체중 증가량과 식이 섭취량

실험기간 동안의 체중의 변화는 대조군의 경우 122.6 g의 체중증가를 보였으나 계 찌질 분말 첨가 식이군은 오히려 6.2 g이 감소하여 두 군간에 뚜렷한 차이가 있었고($p < 0.001$), 식이 섭취량 또한 유의적인 차이($p < 0.001$)를 보였다(Table 2).

Landes와 Bough의 보고(32)에서는 식이내 키토산 함량이 5%를 초과할 때 체중 증가량과 사료이용효율(food efficiency ratio)이 유의적으로 감소하였다고 한다. 본 실험에서 실험군의 식이 100 g 당 키토산의 함량을 추정해 볼 때 약 5%가 되지만, 실험군의 식이 섭취량이 다른 연구의 키토산 식이군에서와 같은 양상을 보이지 않았다. 계 찌질 분말이 키토산(18.21)이나 수용성 섬유소(33)와 유사하게 gastric emptying 지연 효과를 나타내어 식이 섭취량이

Table 1. Diet composition (g/100 g diet)

| Constituent | Control group | Crab shell group ⁴⁾ |
|------------------------------------|----------------|--------------------------------|
| Casein | 20.00 | 20.00 |
| Corn starch | 45.70 | 33.20 |
| Sucrose | 15.00 | 15.00 |
| Corn oil | 4.98 | 4.98 |
| Beef tallow | 4.02 | 4.02 |
| Cholesterol | 1.00 | 1.00 |
| Fiber | 4.00 | - |
| Mineral ¹⁾ | 3.50 | - |
| Vitamin ²⁾ | 1.00 | 1.00 |
| Choline bitartrate | 0.20 | 0.20 |
| DL-methionine | 0.30 | 0.30 |
| Na-taurocholate | 0.30 | 0.30 |
| Crab shell powder | - | 20.00 |
| Total kcal/100g | 412.80 | 362.80 |
| P:C:F ratio (% kcal) ³⁾ | 19.4:58.8:21.8 | 21.1:53.1:24.8 |

¹⁾AIN-76 mineral mixture.

²⁾AIN-76 vitamin mixture.

³⁾Ratio of protein : carbohydrate : fat.

⁴⁾Crab shell powder contains 3.17% nitrogen, 0.75% lipid, 49.39% ash, 9.25% moisture, and 25.00% chitin.

Table 2. Body weight gain and food intake of rats fed crab shell powder diet for 4 weeks

| | Initial body weight (g) | Body weight gain (g/4 wks) | Food intake (g/4 wks) |
|------------------|-------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Control group | 113.3±7.3 | 235.7±7.9 | 406.4± 6.2 |
| Crab shell group | 111.3±7.3 | 104.8±6.5 | 213.8±13.6 |
| Significance | NS ¹⁾ | *** | *** |

¹⁾NS. Not significant.

***p<0.001.

감소할 수는 있겠으나(34), 본 연구 결과에서는 식이 섭취량이 대조군에 비해 크게 낮게 나타났는데, 그 이유는 다른 연구에서 식이에 첨가되었던 키틴이 정제된 무색 무취의 미세 분말이었던 것에 반해 본 연구에서 사용된 게 껍질 분말은 특유한 질감과 냄새를 가지므로 이것이 실험 동물의 미각에 영향을 미친 것으로 추측된다. 또한 실험군에서 식이섭취량은 키틴 및 키토산에 관한 다른 보고서(15,18,21)의 결과와 비교하여 볼 때 더 낮았고 대조군에 비교하여 보면 유의적으로 낮아 게 껍질분말의 성분이 식욕 억제에 영향을 미치는 것인지에 대해서는 조사해 볼 필요가 있다고 여겨진다. 사람이 있어서 섬유소 소화는 쥐의 경우와 크게 다르지 않다는 결과(35)로 볼 때 게 껍질분말의 소화여 있어서도 쥐와 큰 차이는 없을 것으로 추측해 볼 수 있으며, 게 껍질분말 성분(키틴)이 수용성 섬유소와 같은 수분 보유력을 가지고 있어 점성이 높은 겔 구조를 형성하므로 위에 머무르는 시간을 증가시켜 포만감을 제공하고 영양소의 소화흡수를 지연시키는 효과가 있는 것으로 생각된다(36).

장기의 무게

간의 무게는 대조군 11.33 g, 실험군 4.39 g으로 대조군의 간이 실험군에 비하여 약 2.5배 무게를 보였고 비장의 경우도 대조군이 0.67 g으로 실험군 0.24 g에 비해 약 2.8배의 차이가, 심장과 위도 약 2배로 무게의 차이가 있었다. 측정된 모든 장기의 무게가 두 군간 유의적인(p<0.001) 차이를 보였는데(Table 3), 이는 대조군과 실험군의 식이 섭취량의 차이가 영향을 미친 것으로 보인다. 콜레스테롤을 식이에 첨가하였을 때 각 장기의 무게에 영향을 미친

Table 3. Organ weight and percent of organ weight in body weight in rats fed crab shell powder for 4 weeks

| | Organ weight (g) | | Organ index (%) ¹⁾ | |
|---------|------------------|--------------|-------------------------------|---------------------------|
| | Control | Crab shell | Control | Crab shell |
| Liver | 11.33±1.37 | 4.39±0.33*** | 4.80±0.50 | 4.20±0.25** |
| Stomach | 1.26±0.14 | 0.61±0.12*** | 0.54±0.06 | 0.59±0.13 ^{NS2)} |
| Heart | 0.83±0.08 | 0.47±0.02*** | 0.35±0.03 | 0.45±0.02*** |
| Kidney | 1.66±0.15 | 1.19±0.10*** | 0.71±0.05 | 1.14±0.07*** |
| Spleen | 0.67±0.09 | 0.24±0.02** | 0.28±0.04 | 0.23±0.01** |

¹⁾Organ weight/body weight × 100

²⁾NS: Not significant **p<0.01, ***p<0.001.

다는 보고에서 특히 Turley 등(37)은 간 비대증에 관하여 언급하였다. 본 연구에서도 단기간 동안에 고지혈증을 유도하기 위해 1% 콜레스테롤과 0.3% Na-taurocholate를 첨가하였으므로 이들의 첨가로 인하여 지방간이 형성되었고 대조군과 실험군의 간 크기가 체중에서 차지하는 비중을 비교하여 볼 때 간비대 현상이 나타난 것으로 추측된다(p<0.01). 심장, 신장의 체중에 대한 비율은 실험군에서 유의적으로 높았으나(p<0.001) 비장은 대조군에서 유의적으로 높았으며(p<0.01) 위장은 차이가 없는 것으로 나타났다

혈중 지질 농도

혈장의 중성지질은 대조군의 39.44 mg/dL에 비해 실험군이 34.80 mg/dL로 유의적(p<0.05)으로 낮았다(Table 4). 키틴에 대한 다른 연구(18)에서와 유사하게 본 연구에서의 게 껍질분말이 중성지질 농도를 감소시키는 효과를 나타내었으며, 혈중 중성지질에 영향을 주지 못하는 셀룰로오즈와는(38) 달리 게 껍질분말은 수용성 식이 섬유소(39,40)와 유사하게 소장내에서의 점성 증가로 인해 지방 흡수를 저해함으로써 혈장 중성지방의 농도를 저하시키는 것으로 추측된다. 또한 낮았던 열량섭취도 실험군의 혈중 중성지질 농도가 낮는데 직접적으로 영향을 주었을 것으로 여겨진다.

혈장의 총 콜레스테롤 농도는 대조군이 180.63 mg/dL, 실험군이 115.43 mg/dL로 실험군에서 유의적으로 낮았다(p<0.001). 성장하는 어린이들의 경우 혈중 콜레스테롤이 170 mg/dL보다 높게 되면 위험군으로 보기 시작한다(41) 또한 본 논문에서와 같이 실험용 SD 종을 사용하여 콜레스테롤 대사를 연구한 논문들(14,18,40)을 보면 정상 식이를 섭취한 쥐들의 혈중 총 콜레스테롤 농도가 59~92 mg/dL 범위의 값을 보이고 있었다. 키틴 및 키토산에 대한 다른 연구에서는 게에 키토산과 키틴을 먹인 결과 키틴과 셀룰로오즈는 체내의 콜레스테롤에 영향을 미치

Table 4. Plasma lipid profile in rats fed crab shell powder for 4 weeks

| | Control group | Crab shell group |
|---------------------------|---------------|------------------|
| TG (mg/dL) | 39.44± 4.58 | 34.80± 3.89* |
| Total-cholesterol (mg/dL) | 180.63±30.62 | 115.43±15.47*** |
| LDL-cholesterol (mg/dL) | 161.52±30.00 | 59.42±14.79** |
| HDL-cholesterol (mg/dL) | 11.50± 2.57 | 49.05±11.65*** |
| AI ¹⁾ | 15.42± 5.08 | 1.43± 0.47** |
| LPH ²⁾ | 14.73± 4.91 | 1.29± 0.44** |
| Rcho ³⁾ | 0.06± 0.02 | 0.43± 0.09** |

¹⁾AI (atherogenic index). (Total cholesterol - HDL-cholesterol) / HDL-cholesterol

²⁾LPH. LDL-cholesterol/HDL-cholesterol.

³⁾Rcho (relative cholesterol) HDL-cholesterol/Total cholesterol.

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

지 못하고 키토산이 큰 영향을 미쳤다고 보고하였다(42) 키토산의 양이온이 젤을 형성하여 점성을 가지게 되고 이로 인하여 콜레스테롤의 흡수가 저해되고(43,44), 키토산의 콜레스테롤과 중성지질 흡수 저해 효과는 pectin이나 guar gum에 비하여 크다는 보고도 있다(45). 하지만 키토산도 키토산이 가지는 것과 유사한 점성과 보수력을 가지고 있으며 혈중의 지질 농도에 영향을 준다는 새로운 연구 결과가 나오고 있으므로(18,19) 이런 선행연구와 비교해 보면 게 껍질분말 첨가 식이군에서도 혈장 콜레스테롤의 농도 저하 효과가 있으며, 이는 게 껍질분말이 섬유소처럼 콜레스테롤의 흡수를 저해하는 역할을 한 것으로 생각된다. 또한 게 껍질분말은 섬유소와 같이 장내에서 수분 보유력과 점성을 나타내어 장 점막으로 콜레스테롤이 확산되는 것을 지연시켜 콜레스테롤 흡수저하 효과를 나타내는 것으로 생각된다. 섭취하는 콜레스테롤의 양이 많을수록 흡수되는 양과 혈중의 양이 증가하나 이의 분비는 그 증가량에 미치지 못한다(46). 따라서 효율적으로 흡수를 저해하여 체내 지질을 개선하는데 게 껍질분말이 크게 유용할 것으로 보인다.

LDL-콜레스테롤의 농도는 대조군에 비해 실험군에서 현저히($p < 0.001$) 낮았으나 HDL-콜레스테롤 농도는 대조군에 비하여 실험군에서 약 4배 이상 높았다($p < 0.001$). 게 껍질 분말의 첨가가 LDL-콜레스테롤은 낮추고 HDL-콜레스테롤은 높여주는 효과를 보였는데, 이는 키토산 및 키토산이 혈중 지단백 조성에 영향을 미친다는 여러 다른 논문에서와 같은 결과였다(15,18). 수용성 섬유소는 콜레스테롤 저하 작용이 탁월하므로 주로 LDL-콜레스테롤을 낮추고, HDL-콜레스테롤에는 현저한 영향을 미치지 않는 것으로 보고된(47,48) 반면, 불용성 섬유소인 셀룰로오스는 혈장 콜레스테롤 저하 효과가 없다는 보고도 있다(49).

HDL-콜레스테롤/총 콜레스테롤 비는 대조군에 비해 실험군에서 유의적으로 더 높게 나타났다($p < 0.001$). Razand와 Pattersson(50)의 보고에 따르면, 이와 같은 현상은 식이 지방의 장내 이용률 감소로 인하여 이화 작용과 배설을 위해 말초 조직으로부터 간으로 운반이 촉진되어 비가 증가되는 것이라고 한다. 게 껍질분말 식이첨가에 따른 HDL-콜레스테롤의 농도 상승은 혈중의 지질 양상에 게 껍질분말이 긍정적으로 작용한 것으로 보인다. 심혈관 질환의 위험도 판정에 이용되는 동맥 경화 지수(Atherogenic Index; AI)는 미국의 NIH(National Institute of Health Consensus Development Conference)의 기준에 따르면 AI 3.0 이상을 고위험군으로 분류하고 있다. 본 실험에서 동맥경화지수가 대조군은 15.42, 실험군은 1.43으로 현저한 차이를 나타내었다($p < 0.001$) Park 등(18)의 연구에서는 키토산 5% 첨가 식이군에서 1.84이었고 키토산 5% 첨가 식이군에서 1.29로 본 실험 결과와 유사하게 낮은 수치를 보였다. 본 실험의 결과에서 게 껍질분말의 첨가로 총 콜

레스테롤 값은 물론 LDL-콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤의 값이 개선된 결과로 볼 수 있었다. 그러나 이 실험결과를 확실히 뒷받침하기 위해서는 본 실험에서 나타난 두 군간의 식이섭취량 차이를 개선한 실험이 더 진행되어야 할 것이다.

간의 중성지질과 콜레스테롤 농도

간의 중성지질은 Table 5에서와 같이 큰 차이를 보였는데, 대조군은 10.57 mg/g으로 실험군의 1.39 mg/g에 비하여 유의적으로 높게 나타났고($p < 0.001$) 총 콜레스테롤 농도 또한 약 4배 가량 대조군에서 높게 나타났다($p < 0.001$) 게 껍질분말의 첨가 효과는 수용성 섬유소를 섭취했을 때 간에서의 콜레스테롤 저하 효과(38,51)와 유사했다. 본 연구에서 두군간의 식이섭취량의 차이가 대단히 컸었기 때문에 간의 지질농도의 차이를 밝히기 위해서는 두 군간의 식이섭취량 차이를 개선한 실험이 더 진행되어야 할 것이다.

키토산과 키토산 식이군에 대한 다른 연구에서는 키토산 첨가 식이군이 대조군에 비해 간의 중성지질에는 영향을 미치지 않고 콜레스테롤 농도를 오히려 높이는 결과를 나타내었다는 보고 뿐만 아니라(18), 키토산은 중성지질과 콜레스테롤 모두 감소시켰다는 보고도 있다(21). Sodium alginate(51) 및 키토산(52)은 HMG-CoA reductase의 활성을 증가시키고 콜레스테롤의 turnover를 증가시켜 이로 인한 혈중의 콜레스테롤 소비를 촉진시킨다고 하는데, 본 연구에서는 HMG-CoA reductase의 활성은 측정되지 않았으나 게 껍질분말이 콜레스테롤의 흡수를 방해하고 콜레스테롤의 대사를 촉진시켜 효율적인 혈중 콜레스테롤 제거 효과를 가질 수 있다는 가능성은 나타내는 것으로 생각된다.

변의 중량 및 지질과 담즙산 농도

Table 6에 나타낸 바와 같이 게 껍질분말 첨가가 대조군에 비하여 체중증가량은 적었음에도 불구하고 분변량을 현저히 증가시켰으며($p < 0.01$), 이는 키토산에 대한 다른 연구에서와 같은 결과를 보였다(18) 앞에서 언급하였듯이 키토산과 키토산의 기능이 섬유소와 유사한데 변의 용적과 steroid 배설을 증가시키는 면에서도 섬유소와

Table 5. Liver lipid profile in rats fed crab shell powder for 4 weeks

| | Control group | Crab shell group |
|------------------------------------|----------------|------------------|
| TG (mg/g liver) | 10.57 ± 2.28 | 1.39 ± 0.37*** |
| Total-cholesterol (mg/g liver) | 10.49 ± 1.25 | 2.65 ± 0.96*** |
| TG (mg/total liver) | 120.03 ± 30.65 | 6.17 ± 2.04*** |
| Total-cholesterol (mg/total liver) | 119.47 ± 25.42 | 11.84 ± 4.93*** |

*** $p < 0.001$.

Table 6. Excretion of fat and bile acid in feces of rats fed crab shell powder for 4 weeks

| | Control group | Crab shell group |
|---------------------------------|----------------|-----------------------------|
| Dry weight of feces (g/day) | 0.97 ± 0.05 | 1.23 ± 0.18*** |
| Fat excretion (%) ¹⁾ | 8.01 ± 1.06 | 7.72 ± 1.06 ^{NS2)} |
| Bile acid (μg/day) | 52.89 ± 9.10 | 212.44 ± 28.95*** |
| Bile acid/g fat (μg/g) | 464.89 ± 92.97 | 3127.86 ± 362.86*** |

¹⁾Fat excretion (%): (fat excretion / fat intake) × 100

²⁾NS. Not significant. ***p < 0.001.

유사한 기능을 보였다고 한다(33) 본 실험에서의 게 껍질분말도 섬유소와 유사하게 소화되지 않고 대장으로 진입하여 대장내에서 미생물의 작용을 받아 변의 무게와 부피를 증가시키는 효과를 나타내는 것으로 생각된다.

분변으로 배설된 지방의 비율은 두 군간에 유의적인 차이를 보이지 않았던 반면, 담즙산의 배설은 대조군과 실험군 사이에 큰 차이를 보였다(p < 0.001) 하루에 배설되는 담즙산 농도는 대조군 52.89 μg, 실험군 212.44 μg로 실험군에서 4배 가량 많았다. 본 연구에서 배설된 지방량에 대한 담즙산 배출량을 계산해 본 결과 실험군에서 대조군에 비해 유의적으로 크게 나타났는데(p < 0.001). 이로 미루어 보아 게 껍질분말의 첨가가 담즙산 배출을 촉진시키는 역할을 크게 하는 것으로 보여진다. 게 껍질분말의 첨가는 섬유소 기능과 마찬가지로 담즙산 배설 효과를 크게 한 것으로 나타났으나, 게 껍질분말 자체가 수용성 섬유소와 키토산의 기능 즉 1차 담즙산인 cholic acid, chenodeoxycholic acid에서 2차 담즙산인 deoxycholic acid, lithocholic acid, 7-oxolithocholic acid로의 전환을 감소시켜 주는 역할(17.53)을 하는가에 관해서는 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다. 미분해성 단백질의 담즙산 배설 기능 즉, 질소 잔기와 담즙산과의 결합으로 담즙산의 배설이 증가된다는 여러 보고에서와 같이(54-56), 게 껍질분말이 가진 질소 잔기가 장에서 담즙산의 재흡수를 막고 배설을 증가시켜 콜레스테롤을 체내에서 제거시켜주는 역할을 하는 것으로 생각된다.

특히 담즙산의 흡수 지연 효과가 콜수록 콜레스테롤의 저하 효과가 크다고 하므로(57) 본 연구에서도 게 껍질분말의 담즙산 흡수 억제작용이 콜레스테롤 저하에 큰 역할을 한 것으로 보인다. 아울러 대조군에 비하여 실험군에서 담즙산의 배설량이 유의적으로 많으며 간의 콜레스테롤 농도는 유의적으로 적은 것을 볼 때, 게 껍질분말이 담즙산의 재이용을 감소시킴으로서 혈액으로부터 콜레스테롤을 제거하고 또한 담즙산 합성 증대로 효과적인 간 지방 제거 작용을 한 것으로 여겨진다.

결 론

게 껍질분말 자체가 키토인, 키토산이 가지는 혈중 지질 개선 효과를 나타내는가를 알아보기 위하여 고지혈증을

유발시킨 쥐에게 게 껍질분말 첨가식을 급여하여 혈장 및 간의 지질과 분변 중 담즙산 배설에 관한 분석 결과를 요약하여 보면 다음과 같다. 게 껍질분말을 첨가한 실험군에서 체중증가량과 식이섭취량이 대조군에 비하여 유의적으로 낮게 나타났다. 대조군의 간 무게가 실험군에 비해서 유의적으로 컸으며 심장, 신장의 경우에 체중에 대한 장기의 비율은 실험군에서 컸는데 위장만이 두 군간의 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 게 껍질분말 첨가식이 군에서 혈장의 중성지질, 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤은 대조군에 비하여 유의적으로 낮았으나, HDL-콜레스테롤은 유의적으로 높아 혈장 지질개선에 유용한 효과를 보였다. 간조직의 콜레스테롤, 중성지질 농도는 대조군에 비하여 게 껍질분말 첨가 식이를 섭취한 군에서 유의적으로 낮았다. 게 껍질분말 첨가식이 군에서 대조군에 비하여 분변량이 현저히 증가하였고 담즙산의 배설량도 유의적으로 높았다. 본 연구의 결과를 종합하여 보면, 게 껍질분말 자체로 급여하는 것이 정제된 키토인과 키토산을 급여하는 것보다 콜레스테롤 흡수를 저해하고 배설을 촉진시켜 체내의 지질개선 효과를 더 크게 나타낼 수 있는 가능성이 있다고 여겨진다. 즉 게 껍질분말은 콜레스테롤은 물론 중성지질의 흡수까지도 효과적으로 억제하여 혈중 지질을 개선시키고 담즙산의 배설을 촉진시켜 관상동맥질환의 예방 기능을 가지며, 식이 섭취량의 감소로 인하여 비만 예방의 역할 및 변의 용적을 증가시켜 변비를 예방할 수 있는 기능을 할 것으로 기대된다. 그러나 이들 연구결과에는 게 껍질분말이 동물의 미각에 영향을 미쳐 식이 섭취량이 감소되었기 때문에 전체적인 열량의 섭취가 낮아진 영향이 컸을 것으로 여겨진다. 따라서 본 실험 결과를 확실히 뒷받침하기 위해서는 본 실험에서 나타난 두 군간의 식이섭취량 차이를 개선한 실험이 더 진행되어야 할 것이다. 만일 본 실험의 단점을 개선하고 작용기전을 밝히는 실험이 진행되어 이 결과들을 뒷받침할 수 있게 된다면, 추출 분리 과정이 까다로운 키토인 키토산의 제조 공정과 생산 후의 비싼 가격으로 식품 업계에서 사용이 용이하지 않은 단점을 생각하여 볼 때 게 껍질분말을 잘 활용하면 저렴한 비용으로 좋은 효과를 나타내어 널리 이용될 수 있을 것으로 본다.

감사의 글

본 연구는 (주)승익의 지원으로 이루어졌으며 이에 깊이 감사를 드립니다.

문 헌

1. Knorr, D.: Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. *Food Technol.*, 45, 114-119 (1991)
2. 한국수산회: 수산연감, p.99 (1992)

3. No, H.K. and Lee, M.Y. : Isolation of chitin from crab shell waste. *J. Korean Soc Food Nutr.*, **24**, 105-113 (1995)
4. Kim, S.B. and Park, T.K. : Isolation and characterization of chitin from crab shell. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **9**, 174-179 (1994)
5. Kim, S.K. and Lee, E.H. : Biocompatibility and medical applications of chitin and chitosan. *한국 키틴·키틴산 연구회지*, **2**, 39-74 (1997)
6. Wojtasz-Pajak, A. and Brzeski, M.M. : Correlation between characteristic properties of chitosan. 7th. International Conference, France Lyon, p.64-70 (1997)
7. Acosta, N. and Heras, A. : Chymotrypsin immobilized on chitin, hydrolytic activity, stability and peptides' synthesis. 7th International Conference, France Lyon, p.738-743 (1997)
8. Sashiwa, H. and Shigemasa, Y. : Chemical modification of chitin and chitosan 2 ; preparation and water soluble property of N-acylated or N-alkylated partially deacetylated chitin. *Carbohydrate Polymers*, **39**, 127-138 (1999)
9. Kafetzopoulos, D., Martinou, A. and Bouriotis, V. : Bio-conversion of chitin to chitosan ; Purification and characterization of chitin deacetylase from *Mucor rouxii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 2564-2568 (1993)
10. Ministry of health and welfare. National Nutrition survey report, 1995-1997
11. Lands, W.E.M., Hamazaki, T., Yamazaki, K., Okuyama, H., Sakai, K., Goto, Y. and Hubbard, V.S. : Changing dietary patterns. *Am J. Clin Nutr*, **51**, 991-993 (1990)
12. Nogowski, L., Maćkowiak, P., Kandulska, K., Szkudelski, T. and Nowak, K.W. : Genistein-induced changes in lipid metabolism of ovariectomized rats. *Ann. Nutr. Metab.*, **42**, 360-366 (1998)
13. 경제 기획원 조사 통계국 : 사망 원인 통계연보, 1966-1997
14. Bae, K.H. and Kim, H.J. : Effect of dietary chitin, chitosan and NOCC on cadmium toxicity and lipid metabolism in rats. *Korean J. Nutrition*, **30**, 622-633 (1997)
15. Chung, G.H., Kim, B.S., Hur, J.W. and Chung, S.Y. : Effect of dietary lobster shrimp chitosan on lipid metabolism in diet-induced hyperlipidemic rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**, 384-391 (1996)
16. Bae, K.H. and Kim, M.K. : Effect of chitosan and N-O-carboxymethyl chitosan of different sources and molecular weights on lipid metabolism. *Korean J. Nutrition*, **30**, 770-780 (1997)
17. Fukada, Y., Kimura, K. and Ayaki, Y. : Effect of chitosan feeding on intestinal bile acid metabolism in rats. *Lipid*, **26**, 395-399 (1991)
18. Park, J.R., Moon, I.S., Choi, S.H. and Shon, M.Y. : Effect of chitin and chitosan on lipid metabolism in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr*, **28**, 477-483 (1999)
19. Chang, H.J., Jeon, D.W. and Lee, S.R. : *In vitro* study on the functionality in digestive tract of chitin and chitosan from crab shell. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **26**, 348-354 (1994)
20. Kim, M.K. and Seol, E.Y. : Effect of dietary chitin and chitosan on cadmium toxicity and lipid metabolism in rats. *Korean J. Nutrition*, **27**, 996-1006 (1994)
21. Lee, J.M., Cho, W.K. and Park, H.J. : Effect of chitosan treated with enzymatic methods on glucose and lipid metabolism in Rats. *Korean J Nutrition*, **31**, 1112-1120 (1998)
22. Kim, S.B. : Preparation and characterization of microcrystalline chitin from crab shell. *한국생물공학회지*, **11**, 481-488 (1996)
23. Ryu, B.H., Kim, H.S., Won, Y.D. and Lim, B.G. : Chitosan production from mutant *Cunninghamella blakesleeana* IFO 4443. *J. Korean Soc. Food Sci Nutr*, **26**, 87-91 (1997)
24. Tinker, L.F., Davis, P.A. and Schneeman, B.O. : Prune fiber or pectin compared with cellulose lowers plasma and liver lipids in rats with diet-induced hyperlipidemia. *J. Nutr.*, **124**, 31-40 (1994)
25. Peries, J.M., Gustafson, A., Wiegand, D. and Duane, W.C. : Taurocholate is more potent than cholate in suppression of bile salt synthesis in the rat. *J. Lipid Res.*, **24**, 141-146 (1983)
26. Allain, C.C., Poon, L.S., Chan, C.S.G., Richmond, W. and Fu, P.C. : Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinical Chemistry*, **20**, 470-475 (1974)
27. Friedewald, W.T., Levy, R.I. and Fredrickson, S.D. : Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, **18**, 499-502 (1972)
28. Sale, F.D., Marchesini, S., Fishman, P.H. and Berra, B. : A sensitive enzymatic assay for determination of cholesterol in lipid extracts. *Analytical Biochemistry*, **142**, 347-350 (1984)
29. Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G.H. : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **23**, 497-509 (1956)
30. Fausa, O. and Skalhogg, B.A. : Quantitative determination of bile acids and their conjugates using thin-layer chromatography and a purified 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase. *Scand. J. Gastroent.*, **9**, 249-254 (1974)
31. Hagerman, L.M. and Schneider, D.L. : Effect of cholestyramine on fecal bile salt excretion in rats fed diets containing medium-chain triglycerides or corn oil (37260). *Proc Soc. Exp Biol. Med.*, **143**, 93-96 (1973)
32. Landes, D.R. and Bough, W.A. : Effects of chitosan—a coagulating agent for food processing wastes—in the diets of rats on growth and liver and blood composition. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, **15**, 555-563 (1976)
33. Vahouny, G.V., Khalafi, R., Satchithanandam, S., Watkins, D.W., Story, J.A., Cassidy, M.M. and Kritchevsky, D. : Dietary fiber supplementation and fecal bile acids, neutral steroids and divalent cations in rats. *J Nutr*, **117**, 2009-2015 (1987)
34. Nagyvary, J.J., Falk, J.D., Hill, K.L., Schmidt, M.L., Wilkins, A.K. and Bradbury, E.L. : The hypolipidemic activity of chitosan and polysaccharides in rats. *Nutr. Rep. Int.*, **20**, 677-684 (1979)
35. Nyman, M., Asp, N.G., Cummings, J. and Wiggins, H. : Fermentation of dietary fiber in the intestinal tract: comparison between man and rat. *British J. Nutr.*, **55**, 487-496 (1986)
36. Vachoud, L., Zydowiez, N. and Domard, A. : Formation and characterization of a physical chitin gel. *Carbohydrate Research*, **302**, 169-177 (1997)
37. Turley, E., Armstrong, N.C., Wallace, J.M.W., Gilmore, W.S., Mckelvey-Martin, J.V., Allen, T.M. and Strain, J.J. : Effect of cholesterol feeding on DNA damage in male and female syrian hamsters. *Ann. Nutr. Metab.*, **43**, 47-51 (1999)
38. Choe, M., Kim, J.D. and Ju, J.S. : Effect of polydextrose and hydrolysed guar gum on lipid metabolism of normal rats with different level of dietary fat. *Korean J.*

- Nutrition*, **23**, 211-220 (1992)
39. Kang, H.J. and Song, Y.S. : Dietary fiber and cholesterol metabolism *J. Korean Soc. Food Sci Nutr.*, **26**, 358-369 (1997)
 40. Vahouny, F.L., Ink, S.L. and Marlett, J.A. : Dose response to a dietary oat bran fraction in cholesterol-fed rats. *J Nutr.*, **120**, 561-568 (1990)
 41. National Cholesterol Education Program Report of the Expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and Adolescents. NIH Publication No 91-2732. Washington DC. U.S. Department of Health and Human Service (1991)
 42. Okamoto, Y., Nose, M., Sashiwa, H. and Morimoto, M. : Fundamental study on oral administration of chitin and chitosan in dogs. 7th. International Conference, France Lyon. p.625-632 (1997)
 43. Lee, J.K., Kim, S.U. and Kim, J.H. : Modification of chitosan to improve its hypocholesterolemic capacity *Bio-sci. Biotechnol Biochem.*, **63**, 833-839 (1999)
 44. Lee, J.M. and Son, B.K. : Effect of chitosan of different molecular weights on lipid metabolism in rats *Korean J. Nutrition*, **31**, 143-152 (1998)
 45. Ikuo, I., Yochiaki, T. and Michuhiro, S. : Interrelated effects of dietary fiber and fat on lymphatic cholesterol and triglyceride absorption in rats. *J. Nutr.*, **119**, 1383-1387 (1989)
 46. Miettinen, T.A. and Kesniemi, Y.A. : Cholesterol absorption ; regulation of cholesterol synthesis and elimination and within-population variations of serum cholesterol levels. *Am J Clin Nutr.*, **49**, 629-635 (1989)
 47. Brown, L., Rosner, B., Willett, W.W. and Sacks, F.M. : Cholesterol-lowering effects of dietary fiber; a meta-analysis. *Am. J. Clin Nutr.*, **69**, 30-42 (1999)
 48. Humminghake, D.B., Miller, V.T., Larosa, J.C., Kinoshian, B., Brown, V., Howard, W.J., Diserio, F.J. and O'Connor, R.R. : Hypocholesterolemic effects of a dietary fiber supplement. *Am. J. Clin Nutr.*, **59**, 1050-1054 (1994)
 49. Aderson, J.W., Jones, A.E. and Riddell-Mason, S. : Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. *J. Nutr.*, **124**, 78-83 (1994)
 50. Razand, A. and Pattersson, D. : Effect of chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentrations in broiler chicken. *British J Nutr.*, **72**, 277 (1994)
 51. Yang, J.L., Suh, M.J. and Song, Y.S. : Effect of dietary fiber on cholesterol metabolism in cholesterol-fed rats *J. Korean Soc. Food Sci Nutr.*, **25**, 392-398 (1996)
 52. Lehoux, J.G. and Grondin, F. : Some effects of chitosan on liver function in the rat. *Endocrinology*, **132**, 1078-1084 (1993)
 53. Hwang, E.H. : The relationship to dietary fiber intake and fecal bile acid profiles *Korean J Nutr.*, **29**, 41-49 (1996)
 54. Kim, J.D., Lee, Y.I., Kim, B.R., Choi, Y.S. and Lee, S.Y. : Effect of *meju* powder supplementation on lipid metabolism in rats fed hypercholesterolemic diet. *J. Korean Soc. Food Sci Nutr.*, **26**, 314-318 (1997)
 55. Ko, M.K., Kwon, T.W. and Song, Y.S. : Effect of yellow and black soybeans on plasma and hepatic lipid composition and fecal lipid excretion in rats. *J. Korean Soc. Food Sci Nutr.*, **27**, 126-131 (1998)
 56. Park, M.H., Lee, Y.J., Hwang, S.W., Han, J.P. and Bae, M.J. : Effect of *Platycodi radix saponum* on serum, liver, and fecal lipids content in rats fed on high fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci Nutr.*, **23**, 568-573 (1994)
 57. Lee, K.S. and Lee, S.R. : Retarding effect of dietary fibers on the glucose and bile acid movement across a dialysis membrane *in vitro* *Korean J Nutr.*, **29**, 738-746 (1996)

(2000년 1월 29일 접수)